

脳梗塞時における血液凝固制御因子 ADAMTS 13 の病態生理学的役割の解明と治療への応用

中野 貴文

福岡大学薬学部生体機能制御学教室 〒814-0180 福岡市城南区七隈8-19-1

Elucidation of the pathophysiological role of blood coagulation regulator ADAMTS 13 in cerebral ischemia and its application to therapy

Takafumi Nakano

Dept. Neuropharmacol. Fukuoka Univ. Sch. Pharm. Sci.
8-19-1 Nanakuma, Jonanku, Fukuoka 814-0180, Japan

Abstract

Tissue plasminogen activator (tPA) is effective if administered within 3 – 4.5 hours after the onset of stroke. However, its use is limited in patients with ischemic stroke because of the narrow therapeutic time window available for safe and effective therapy, beyond which tPA may increase the incidence of intracerebral hemorrhage and further brain injury. ADAMTS 13 is known to cleave von willebrand factor (VWF) on the surface of platelet thrombi in a shear force-dependent manner, which limits thrombus growth. Thus, ADAMTS 13 dissolves only pathological thrombi and not VWF-platelet primary hemostatic thrombi, and may therefore have a low risk of inducing intracerebral hemorrhage following dissolution of thrombi in ischemic stroke. In this study, we investigated whether ADAMTS 13-deficiency enhanced microcirculatory disturbances after cerebral ischemia. ADAMTS 13 gene knock-out (KO) and wild-type (WT) mice were subjected to 30-minute middle cerebral artery occlusion (MCAO) and 23.5-hour reperfusion. The cerebral blood flow (CBF) around the cortex of the ischemic region was measured by laser Doppler flowmetry for 60 minutes after MCAO. In both WT and KO mice, the CBF was decreased to less than 20% of the baseline value during MCAO and was returned to normal immediately after reperfusion. However, during the subsequent 30 min the CBF was progressively decreased in KO mice compared with WT mice, suggesting that ADAMTS 13 deficiency promoted thrombosis after reperfusion injury. The infarction volumes of the brain also were increased in KO mice.

Moreover, we examined whether treatment with ADAMTS 13 protects against ischemic brain injury through improving cerebral blood flow with a low risk of intracerebral hemorrhage compared with tPA. ADAMTS 13 (0.1 mg/kg) or tPA (10 mg/kg) was administered i.v., immediately after reperfusion of after 2-h or 4-h MCAO for comparison of the therapeutic time windows in ischemic stroke. Infarct volume, hemorrhagic volume, and cerebral blood flow (CBF) were measured 24 hours after MCAO. Both ADAMTS 13 and tPA improved the infarct volume without hemorrhagic complications in 2-h MCAO mice. On the other hand, ADAMTS 13 reduced the infarct volume, and improved CBF without hemorrhagic complications in 4-h MCAO mice, but tPA was not effective and these animals showed massive intracerebral hemorrhage. These results indicated that endogenous ADAMTS 13 is important protective factor in ischemic stroke. And, treatment with ADAMTS 13 has a longer therapeutic time window in ischemic stroke than tPA. Thus, ADAMTS 13 may be useful as a new therapeutic agent for ischemic stroke.

Keywords: cerebral ischemia, ADAMTS 13, tissue plasminogen activator, therapeutic time window.

【緒言・目的】

脳梗塞を含む脳血管疾患は、総患者数が約130万人であり、脳梗塞による年間死亡者数は約7万人と重篤な疾患である(厚生労働省平成23年「患者調査の概要」)。また、脳血管疾患は後遺症が生じることから、要介護となる疾患の第一位であり(厚生労働省平成25年「国民生活基礎調査の概要」)、社会的問題となっている。そのため、脳梗塞に対する医療ニーズは今後ますます高くなると考えられる。

脳梗塞後の脳内では、血栓の形成により、脳血流量が低下し、急性期には興奮毒性による神経障害や血管内皮細胞障害、脳浮腫、微小循環障害がみられ、亜急性期には炎症反応を中心とした細胞障害が生じるなど複雑な病態が進行する。現在の脳梗塞治療には、組織プラスミノゲンアクチベータ(tissue plasminogen activator; t-PA)を用いた血栓溶解療法が最も有効な手段である^(1,2)。しかし、t-PAのフィブリン溶解作用は、生体内の止血機能にも強く影響を与える^(3,4)。そのため、血管内皮上に傷害が起きている場合、重篤な出血性合併症を引き起こすリスクが高いことから、t-PAは脳梗塞発症後4.5時間以上経過した場合には投与禁忌となっている。このことから、t-PAを適応できる脳梗塞患者はわずかであり、今後は脳梗塞治療可能時間がより長い有用な血栓溶解薬の登場が求められている。

生体内酵素のADAMTS 13(a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs 13)は血液凝固因子であるvWF(von willebrand factor)を切断することで血栓溶解作用を示す⁽⁵⁾。ADAMTS 13の血栓溶解作用はt-PAとは異なり、血栓の形成により生じるズリ応力によって引き伸ばされたvWFのみを切断する⁽⁶⁾。そのため、ADAMTS 13は、病的な血栓のみを溶解し、止血機能への影響は少ないため、脳出血を誘発するリスクが少ない血栓溶解薬となることが期待されている。

そこで、本研究は血栓溶解作用を持つADAMTS 13がt-PAよりも有用な脳梗塞治療薬となることを実証するために、①「脳梗塞発症時における内因性ADAMTS 13の病態生理学的役割」を確認し、②「ADAMTS 13は脳出血を引き起こすことなく、脳梗塞治療効果を示すか」を検討した。また、脳梗塞発症後、亜急性期以降の炎症反応に対して効果を持つことは脳梗塞治療可能時間の拡大につながると考え、③「ADAMTS 13は脳梗塞後の炎症反応に対して効果を示すか」について検討した。

【実験方法】

脳梗塞モデルマウスの作成手順

マウスを2%イソフルラン吸入より麻酔を導入し、効果が得られた後に1%で維持した。マウスを仰向けに手術台に固定し、頸部中央を切開し、左側総頸動脈と外頸動脈を結紮した。総頸動脈分岐部を約1 mm程度切開し、塞栓子が中大脳動脈(middle cerebral artery; MCA)の起始部に到達するように、切開口から9 mm挿入した。再灌流は、塞栓子を手前に引き抜くことによって行った。塞栓子は長さ11 mmの8-0ナイロンモノフィラメント(Ethilon; Ethicon, NJ, USA)の先端から4 mmをシリコン樹脂(Xantopren; Bayer Dental, Osaka, Japan)でコーティングしたものを使用した。コーティング部分の直径は、体重により適切な太さを選択した。MCA閉塞時間は30分、2時間、4時間など目的に合わせて変えている。

梗塞巣体積の評価

MCA閉塞後、所定の時間後に再灌流を行い、MCA閉塞24時間後にマウスの頸椎を脱臼した後、直ちに断頭した。取り出した脳を冷却した生理食塩液でよく冷やし、大脳皮質を含む脳の前額断スライスで2 mm間隔で作製した。切片を2%2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC, SIGMA)溶液中で37℃、30

分間インキュベートした。そして、スライドガラス上に並べ、デジタルスチルカメラ (MVC-FD91, SONY) で撮影した。その写真から梗塞総面積を画像解析ソフト (NIH Image 1.63) で測定し算出した。

脳出血量測定

脳出血量は、断面の写真から脳出血巣総面積を画像解析ソフト (NIH Image 1.63) で測定し算出した。

神経障害に評価

神経障害については、障害の程度によって下記のように点数化し評価した。

< Neurological score >

0: normal motor function

1: flexion of torso and of contralateral forelimb upon lifting of the animal by the tail

2: circling to the contralateral side but normal posture at rest

3: circling to the contralateral side

4: rolling to the contralateral side

5: leaning to the contralateral side at rest (no spontaneous motor activity)

脳血流量の測定

脳血流は、直径5 mmのprobe (ALF 2100, Advance Co, Tokyo, Japan) を用い、laser Doppler flowmetry (ALF21, Advance Co., Tokyo, Japan) を用いて測定した。Probeの植え込みはMCA閉塞を行う前日に施行した。Probeの植え込み方法はガイドカニューレを用いて、sodium pentobarbital 50 mg/kgの腹腔内投与麻酔下で、マウスをマウス定位固定装置に固定した後、頭皮を切開し、虚血同側である左半球の大脳皮質 (A:-0.22 mm, L:2.5 mm, H:1.5 mm) に施した。各部位は、The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinatesを参考にした。脳血流測定はMCA閉塞30分前から行い、MCA閉塞から4時間、さらに再灌流から20時間まで測定した。

血漿中HMGB1濃度測定

MCA閉塞後、4時間後にADAMTS 13 (0.1 mg/kg) またはt-PA (10 mg/kg) を尾静脈より、投与し、再灌流を行った。MCA閉塞後24時間後にジエチルエーテ麻酔下で、マウスの腹部を切開し、下大静脈より血液を採取した。採取した血液は遠心機を用いて3000rpmで10分間遠心分離を行った。その上澄みを採取し、サンプルとした。

尚、HMGB1の測定にはシノテストを用いて行った。

統計処理

独立した2群間の比較にはstudent t-testを使用し、また多重比較を行う場合はTukey's testを使用した。なお、危険率が5%である場合を統計学的に有意差有りとした。

【結果】

1. 脳梗塞発症時における内因性ADAMTS 13の病態生理学的役割

ADAMTS 13遺伝子を欠損させたADAMTS 13ノックアウト (ADAMTS 13KO) マウスのMCAを30分間閉塞し、脳梗塞を発症させることで、脳梗塞時にADAMTS 13が果たす病態生理学的役割を検討した。

その結果, ADAMTS13KOマウスはワイルドタイプマウス (WTマウス) に比べて, 梗塞巣体積が有意に増加した (Fig.1)。また, ADAMTS13KOマウスはWTマウスに比べて, 脳梗塞後の脳血流量が有意に低下することが明らかとなった (Fig.2)。これらのことから, 内因性ADAMTS13は脳梗塞時に血栓の形成を抑制し, 脳梗塞の悪化を防ぐ酵素であることが示唆された。

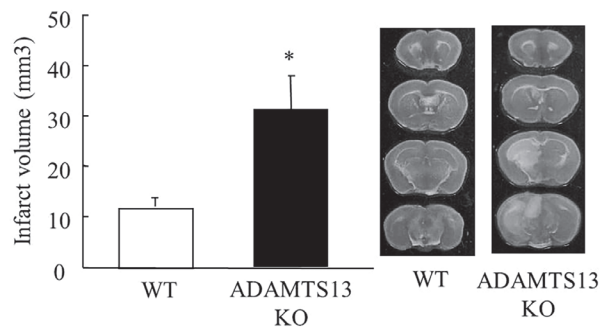


Fig.1 Effects of ADAMTS13 gene deletion on brain infarct in mice subjected to 30-min MCAO.

Quantitative analysis of infarct volume was performed in mice subjected to 30-min MCAO and WT (n = 16) or ADAMTS13 KO (n = 16). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

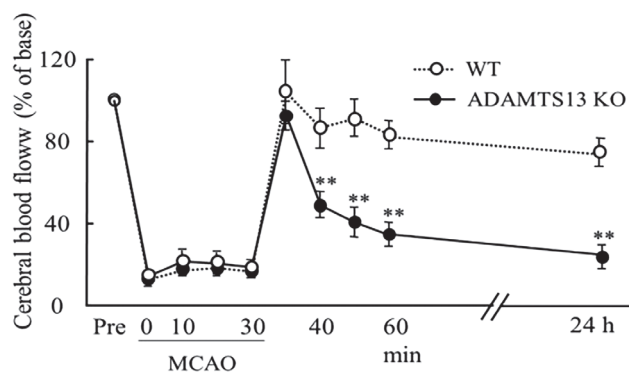


Fig.2 Effects of ADAMTS13 gene deletion on CBF in mice subjected to 30-min MCAO.

Quantitative analysis of CBF was performed in mice subjected to 30-min MCAO and WT (n = 8) or ADAMTS13 KO (n = 9). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

2. ADAMTS13は脳出血を引き起こすことなく, 脳梗塞治療効果を示すか

ADAMTS13タンパクを脳梗塞時に投与し, 脳梗塞治療効果を検証した。更に, その治療効果について, t-PAと比較し, 脳梗塞治療可能時間が拡大することを確認した。

2-1. t-PAの脳梗塞治療可能時間の検討

マウスに脳梗塞を発症させ, t-PA (10 mg/kg, i.v.)を脳梗塞発症後2または4時間後に投与し, 翌日に梗塞巣体積を評価した。その結果, 脳梗塞発症後2時間後にt-PAを投与した場合, vehicle投与群 (生理食塩液, i.v.) に比べて有意に梗塞巣体積を減少させた。一方で脳梗塞発症4時間後にt-PAを投与した場合, vehicle投与群と比べて梗塞巣体積に変化は認められなかった (Fig.3)。以上の結果から, t-PAの脳梗塞治療可能時間は脳梗塞発症後4時間未満であることが明らかとなった。

2-2. ADAMTS13タンパクの脳梗塞治療可能時間の検討

上記と同じ条件でADAMTS13タンパク (0.1 mg/kg, i.v.) を脳梗塞発症後2または4時間後に投与し、翌日に梗塞巣体積を評価した。その結果、脳梗塞発症後2, 4時間後に、ADAMTS13を投与した場合、vehicle投与群に比べて有意に梗塞巣体積を減少させた (Fig.4)。以上のことから、外因性ADAMTS13タンパクは脳梗塞に有効であること、その治療可能時間は脳梗塞発症後4時間以上であり、t-PAより治療可能時間が長いことが示された。

2-3. ADAMTS13タンパク, t-PA投与後の神経障害の変化

上記と同じ条件でADAMTS13タンパクまたはt-PAを脳梗塞発症後4または時間後に投与し、神経障害を評価した。その結果、脳梗塞後2時間後にt-PAまたはADAMTS13を投与した場合は、MCA閉塞後24時間後の神経障害は両群ともにvehicle投与群と比べて有意に改善した。一方で、脳梗塞後4時間後にt-PAまたはADAMTS13を投与した場合は、MCA閉塞後24時間後の神経障害はADAMTS13投与群のみ有意に神経障害を改善した。以上より、ADAMTS13はt-PAより神経障害を軽減させることができる治療可能時間が長いと考えられる。

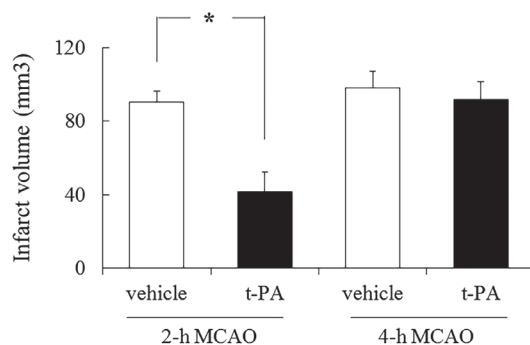


Fig.3 Effects of t-PA on brain infarct in mice subjected to 2-h and 4-h MCAO.

Quantitative analysis of infarct volume was performed in mice subjected to 2-h MCAO and treated with vehicle (n = 6) or 10 mg/kg t-PA (n = 7). Quantitative analysis of infarct volume was performed in mice subjected to 4-h MCAO and treated with vehicle (n = 10) or tPA (n = 6). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means \pm standard error of the mean.

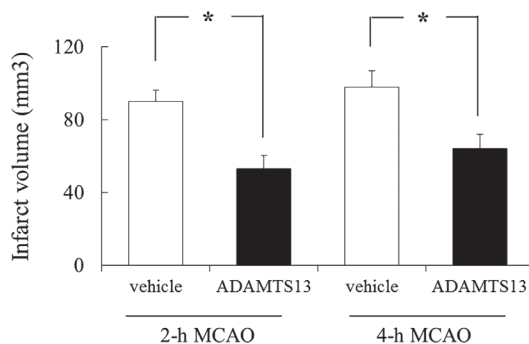


Fig.4 Effects of ADAMTS13 on brain infarct in mice subjected to 2-h and 4-h MCAO.

Quantitative analysis of infarct volume was performed in mice subjected to 2-h MCAO and treated with vehicle (n = 6) or ADAMTS13 (n = 6). Quantitative analysis of infarct volume was performed in mice subjected to 4-h MCAO and treated with vehicle (n = 10) or ADAMTS13 (n = 6). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means \pm standard error of the mean.

Table 1. Effects of ADAMTS13 and t-PA on neurological impairment in mice subjected to 2-h or 4-h MCAO.

Variables	2-h MCAO		4-h MCAO	
	Just before administration	After 24 hours	Just before administration	After 24 hours
vehicle	2.50±0.22	3.17±0.30	3.00±0.21	3.70±0.21
t-PA	2.57±0.20	1.86±0.26*	2.83±0.40	3.83±0.17
ADAMTS13	2.50±0.22	2.00±0.26*	3.17±0.48	2.67±0.21*

Quantitative analysis of neurological score in mice subjected to 2-h MCAO and treated with vehicle (n = 6), t-PA (n = 7), or ADAMTS13 (n = 6). Quantitative analysis of neurological score in mice subjected to 4-h MCAO and treated with vehicle (n = 10), t-PA (n = 6), or ADAMTS13 (n = 6). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

2-4. ADAMTS13タンパク、t-PA投与後の脳出血量と脳血流量変化

上記と同じ条件でADAMTS13タンパクまたはt-PAを脳梗塞発症後4時間後に投与し、脳出血量と脳血流量を評価した。その結果、t-PAは脳出血を誘発したが、ADAMTS13は脳出血を誘発しなかった (Fig.5)。この脳出血誘発の有無が脳梗塞発症後4時間後の投与でt-PAが効果を示さなかった要因であったと考えられる。両薬物投与後の脳血流量に関してもADAMTS13投与群では、脳梗塞発症後24時間後も継続して脳血流量が改善しているのに対し、t-PA投与群では一過性の血流改善は認めたものの、出血性梗塞を示したためか、脳梗塞発症後24時間後には脳血流量の低下が認められた (Fig.6)。以上より、ADAMTS13はt-PAより脳出血を伴わず、長い脳梗塞治療可能時間を持つ可能性があると考えられる。

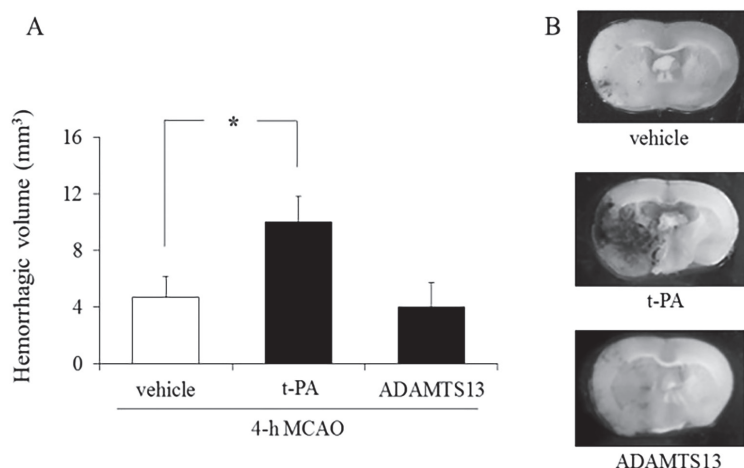


Fig. 5 Effects of delayed treatment with ADAMTS13 and t-PA on intracerebral hemorrhage in mice subjected to 4-h MCAO.

Quantitative analysis of hemorrhagic volume (A) in groups treated with vehicle (n = 6), t-PA (n = 6), or ADAMTS13 (n = 6). Photographs of representative unstained coronal brain sections (B). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

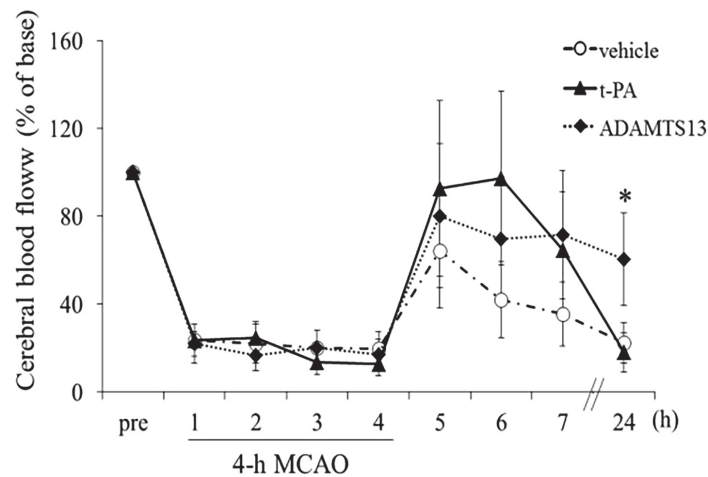


Fig. 6 Effects of delayed treatment with ADAMTS13 and t-PA on CBF in mice subjected to 4-h MCAO.

Quantitative analysis of CBF in groups treated with vehicle (n = 6), t-PA (n = 6), and ADAMTS13 (n = 6). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

3. ADAMTS13は脳梗塞後の炎症反応に対して効果を示すか

脳梗塞後に生じる炎症反応は脳梗塞の予後を悪化させる。炎症性サイトカインのHMGB1は、MCA閉塞後の血漿中HMGB1濃度がピークに到達する際に、MCA閉塞による死亡率が最も増加することを確認している⁽⁶⁾。このことからADAMTS13投与によりHMGB1の発現量を減少させることができれば脳梗塞の予後を大きく改善できることが期待できる。そのため、2-3の条件でADAMTS13タンパクまたはt-PAを脳梗塞発症後4時間後に投与し、血漿中HMGB1濃度を測定した。その結果、ADAMTS13投与群はvehicle投与群に比べて有意に低値を示した(Fig.7)。ADAMTS13は、1427アミノ酸残基からなる一本鎖のメタロプロテアーゼであり、様々なマルチドメインをもつ。その中でもthrombospondin type 1 repeatsが、抗炎症作用に関与していることを培養実験により明らかにした。

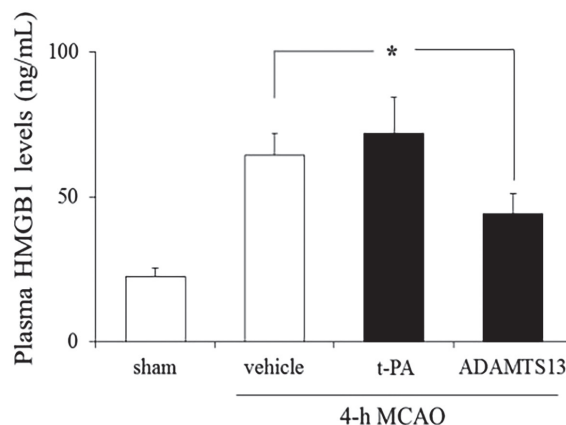


Fig.7 Effects of delayed treatment with ADAMTS13 and tPA on plasma HMGB1 levels in mice subjected to 4-h MCAO.

Quantitative analysis of plasma HMGB1 levels were performed in mice subjected to 4-h MCAO and treated with sham (n = 7), vehicle (n = 9), t-PA (n = 7), and ADAMTS13 (n = 7). *P < 0.05 versus vehicle. All values are means ± standard error of the mean.

【考察】

本研究は血栓溶解作用を持つ ADAMTS 13 が t-PA よりも有用な脳梗塞治療薬となることを実証するために、①「脳梗塞発症時における内因性 ADAMTS 13 の病態生理学的役割」を確認し、②「ADAMTS 13 は脳出血を引き起こすことなく、脳梗塞治療効果を示すか」を検討した。また、脳梗塞発症後、亜急性期以降の炎症反応に対して効果を持つことは脳梗塞治療可能時間の拡大につながると考え、③「ADAMTS 13 は脳梗塞後の炎症反応に対して効果を示すか」について検討した。

まず、ADAMTS 13 の脳梗塞時における病態生理的な役割について検討するために、遺伝子改変した ADAMTS 13 KO (KO) マウスを用いて検討した。検討を行う上で、KO マウスと WT マウスで体温、血液ガス、プロトロンビン時間など梗塞巣の拡大に影響を与えると思われる生体そのものの機能に差はないことを明らかにした (data not shown)。KO マウスと Wild Type (WT) マウスに 30 分 MCA 閉塞を施し、23.5 時間後の梗塞巣体積を比較したところ、30 分という短い脳虚血に対しても KO マウスでは梗塞巣の拡大が進行していることが認められた。このことから、生体内 ADAMTS 13 は脳梗塞時に脳保護に働く役割をしていることが考えられる。また、本実験で 30 分間の MCA 閉塞時間を選択したのは、KO マウスに 1 時間以上の脳虚血を与えるとほぼ全例死亡してしまうことによる。このことから ADAMTS 13 は脳梗塞時において重要な役割を果たしているということが考えられる。次に、脳血流量について検討したところ、MCA 閉塞時では WT マウス、KO マウス共に血流量の低下が認められたが、KO マウスでは再灌流後も再び血流量の低下がみられた。血管閉塞時にグルタミン酸過剰遊離による興奮毒性や、酸欠、炎症などにより、血管内皮に損傷が生じると、再び血流が開通された際に、損傷部位に血小板や vWF などの凝血因子が接着し、微小循環障害として二次的な脳損傷を引き起こす。ADAMTS 13 はその血栓溶解作用により、虚血-再灌流後の微小循環障害により引き起こされる脳損傷に対し、血流を改善することで悪化を防いでいると考えられる。このことから内因性 ADAMTS 13 は脳梗塞時に血栓溶解作用を示すことで脳梗塞の悪化を防いでいる重要な生理活性物質であると考えられる。

更に本研究では ADAMTS 13 の病態生理学的役割を解明した結果、治療応用が可能であると考えた。更に ADAMTS 13 はその特徴的な血栓溶解様式から脳出血を誘発させるリスクが少ないと考えられ、ADAMTS 13 投与が脳梗塞に対し効果示すのか、また、t-PA より出血リスクの少ない血栓溶解薬となりえるかを検討した。まず、t-PA を MCA 閉塞後さまざまな時間帯に投与し、t-PA が脳出血を誘発させる時間つまり t-PA の治療可能時間を検討した。MCA 閉塞後 2 時間での t-PA 投与 (10 mg/kg) は vehicle 投与群に比べて梗塞巣体積を有意に減少させた。また、血栓溶解薬の副作用として問題となる脳出血の誘発もみられなかった。一方で、MCA 閉塞後 4 時間での t-PA 投与 (10 mg/kg) は梗塞巣体積に変化は見られず、大量に脳出血を誘発させていることが認められた。以上の結果から、脳虚血後 2 時間以内の t-PA 投与では治療効果を発揮することができるが、4 時間を超えると大量の脳出血を引き起こすことから、臨床でも言われているように発症からの投与が遅延した場合は t-PA が治療効果を示さないどころか、重篤な脳出血を生じることが動物実験でも明らかとなった。脳虚血後、長時間が経過すると、血管内皮などは脆くなっていき、その状態で t-PA のような強力な血栓溶解作用を持つ薬物を投与すると、急激な血流量増加により、脆くなった血管内皮や血管壁が破綻し、脳出血を併発させると考えられる^(3,4)。また、t-PA 自体に MMP3 や MMP9 を活性化させ、血管内皮を傷つけてしまう作用や、血栓溶解時に赤血球分解産物が血液内に放出されることにより Fe²⁺ を核としたラジカルが生じ、血管内皮障害を悪化させる作用や、血小板インテグリン受容体遮断による易出血状態に陥るといった作用などさまざまあり⁽⁷⁻⁹⁾、t-PA はまさに「もろ刃の剣」として定義されている。そのため、t-PA 以上の治療可能時間と脳出血を引き起こしにくい新たな治療法を確立する必要がある。

次に、実際にADAMTS 13が脳梗塞に対し治療効果を示すのか、正常マウスにMCA閉塞を施し、ADAMTS 13タンパクを投与することで検討した。まずMCA閉塞後2時間でのADAMTS 13投与はt-PA投与時と同等の梗塞巣体積の減少を示した。続いて、MCA閉塞後4時間でのADAMTS 13投与は、t-PA投与が効果を示さなかったのに対し、ADAMTS 13投与群はvehicle投与群に比べて有意に梗塞巣体積を減少させた。この要因として、治療可能時間を越えたt-PA投与では明らかな脳出血を誘発していることに対し、ADAMTS 13投与群では脳出血を誘発しておらず、このことが治療効果の明暗を分けた理由のひとつであると考えられる。実際にMCA閉塞後4時間でのADAMTS 13またはt-PA投与による脳血流量の変化では、t-PA投与群では投与後、一過性の脳血流量の変化はみられたものの、脳出血を生じたためか、MCA閉塞後24時間後では脳血流量の低下が認められた。一方で、ADAMTS 13投与群ではMCA閉塞後24時間後でも継続して脳血流量に改善がみられていた。以上のことより、ADAMTS 13はt-PA以上の脳梗塞治療可能時間を持つ可能性があると考えられる。しかし、t-PA同様にADAMTS 13も血栓溶解作用を示すにも関わらず異なる結果を得た要因として、ADAMTS 13の特徴的な血栓溶解様式にあると考えられる。t-PAの血栓溶解様式は、その強力な血栓溶解作用から血栓を根元から溶解するため、血栓溶解という面では抜群の効果を発揮するが、脳出血を誘発しやすい状態にも陥る。一方、ADAMTS 13は、ずり応力依存的にvWFを切断し血栓を溶解する特徴を持つことが報告されている^(5,6)。vWFは一つのsubunitが多重に重合した状態で血液中を循環している。ADAMTS 13はvWFのA2ドメインを特異的に切断する酵素であるが^(5,6)、vWFが重合した状態ではA2ドメインに到達することができず、ADAMTS 13は血栓溶解反応を示すことができない。つまり、ADAMTS 13がvWFを切断するにはvWFのstretchが重要であると報告されている。この事が何を意味するのかというと、Fig.8で示すように、血栓が形成されると血流速度に差が生じる。そして血流速度の速い側では血栓を引き延ばそうとする力が働き、vWFのstretchが起きる。これを血液のずり応力と呼び、ADAMTS 13はずり応力により引き延ばされたvWFを切断することで血栓溶解作用を示すと考えられる。つまりADAMTS 13は血栓の端から徐々に血栓を削る性質を持ち、病的血栓が消失し、血流速度の勾配が消失するとADAMTS 13はvWFを切断しなくなるため、本来生体防御に必須な止血機能は維持できると考えられる。この性質により、ADAMTS 13はt-PAで問題となる脳出血の誘発を克服できたと考えられる。

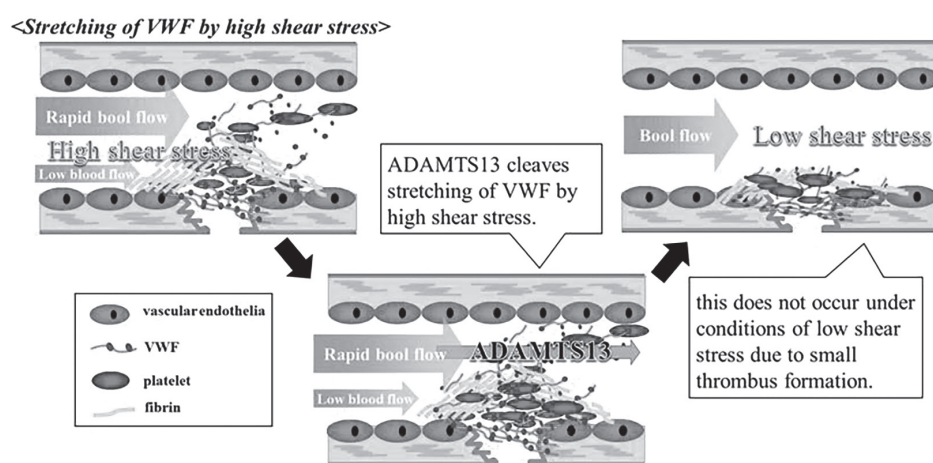


Fig.8 ADAMTS13 cleaves stretching of vWF by high shear

また、t-PAによる脳出血誘発の要因には炎症反応も関与していると報告されている⁽⁷⁻⁹⁾。脳梗塞後の炎症反応は血液脳関門の破綻や血管内皮の損傷を引き起こし、脳出血を誘発させやすい状態へと導く。また、t-PA自体にも炎症反応を誘発させる作用があることが報告されており⁽⁷⁾、t-PAを脳梗塞後遅発的に投与するとP-セレクチンやE-セレクチン、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)などの血管炎症が生じると報告されている⁽⁹⁾。ADAMTS1には、炎症反応にも寄与している可能性があり、実際にADAMTS13投与後の血漿中HMGB1濃度は有意に減少したことから、抗炎症作用も示すことが明らかとなった。つまりADAMTS13の持つ抗炎症作用は、炎症による梗塞巣拡大の抑制だけでなく、脳出血リスクの軽減にも働いていると考えられる。

以上のことより、血栓溶解作用のみならず抗炎症作用も示すADAMTS13は急性期から亜急性期に引き起こす細胞障害に対し有効であり、その特徴的な血栓溶解様式から脳出血を併発しにくい可能性がある。そのため、ADAMTS13はt-PA以上の安全性、治療効果、治療可能時間の拡大が期待でき、脳梗塞の新規治療薬の候補として可能性を秘めていることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Hacke W, Brodt T, et al: Thrombolysis in acute ischemic stroke: controlled trials and clinical experience. *Neurology*. 1999; 53. S3-S14.
- 2) Park TH, Lee JS, et al: Safety and efficacy of intravenous recombinant tissue plasminogen activator administered in the 3- to 4.5-hour window in Korea. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014; 23. 1805-1812.
- 3) Dijkhuizen RM, Asahi M, et al: Rapid breakdown of microvascular barriers and subsequent hemorrhagic transformation after delayed recombinant tissue plasminogen activator treatment in a rat embolic stroke model. *Stroke*. 2002; 33. 2100-2104.
- 4) Ding G, Zhang Z, et al: MRI evaluation of BBB disruption after adjuvant AcSDKP treatment of stroke with tPA in rat. *Neuroscience*. 2014; 271. 1-8.
- 5) Sadler JE: Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2008; 112. 11-18.
- 6) Shida Y, Nishio K, et al: Functional imaging of shear-dependent activity of ADAMTS13 in regulating mural thrombus growth under whole blood flow conditions. *Blood*. 2008; 111. 1295-1298.
- 7) Miles LA, Lighvani S, et al: New insights into the role of Plg-RKT in macrophage recruitment. *Rev Cell Mol Biol*. 2014; 309. 259-302.
- 8) Uekawa K, Hasegawa Y, et al: Rosuvastatin ameliorates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via suppression of superoxide formation and nuclear factor-kappa B activation in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014; 23. 1429-39.
- 9) Zhang RL, Zhang ZG, et al: Thrombolysis with tissue plasminogen activator alters adhesion molecule expression in the ischemic rat brain. *Stroke*. 1999; 30. 624-629.